

染色体整列の効率性の低下により引き起こされる染色体不安定性の実態解明

著者	國安 絹枝
号	88
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3810号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00126228

氏名	クニヤス キヌエ 國安 絹枝
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成30年9月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程) 医科学 専攻
学位論文題目	染色体整列の効率性の低下により引き起こされる染色体不安定性の実態解明
論文審査委員	主査 教授 田中 耕三 教授 中山 啓子 教授 本橋 ほづみ

論文内容要旨

大部分の固形がんでは、染色体の数が異常な状態である異数性を示し、高頻度に染色体分配異常を引き起こす染色体不安定性を有する。正常な染色体分配では、複製された姉妹染色分体が赤道面へ速やかに運ばれた後、両極から伸びる微小管と姉妹染色分体のキネトコアが双方向性のキネトコア-微小管結合を形成し、それぞれの染色体分体は両極へと分配されていく。この時、一つのキネトコアが両極から伸びる微小管と結合するキネトコア-微小管の誤った結合が生じると、その染色体分体は両極から同時に引っ張られることになり分配時に両極の真ん中に取り残されてしまう状態に陥る。そのため、真ん中に取り残された染色体は多くの場合、他の染色体とは別に核膜を形成し、異常な核型を生じる。双方向性結合に必須の機構に異常が生じた細胞では大幅な染色体数の変動による細胞周期の停止を引き起こし、その後細胞死に至る。そのため、双方向性結合に必須の機構の異常は、がんで見られる異数性細胞の蓄積には繋がらないことが予想される。

近年、所属研究室において分裂期キネシンの一員であるクロモキネシンである Kid を発現抑制した細胞では、双方向性結合や分裂期の進行に異常は来さないが、分裂期前中期の遅延(染色体整列の効率性の低下)とともに、僅かに染色体分配異常と染色体数の変動が生じることが見出された。そこで、本研究では分裂期前中期の遅延に代表される染色体整列の効率性の低下が、細胞の生存を許容する僅かな染色体数の変動を引き起こす要因となり得るのか、また、その場合、どのようにして染色体数の変動が誘導されるのかを検証した。

染色体分配には Kid 以外にも様々な分裂期モーター分子が機能している。まず、分裂期モーター分子及びその関連タンパク質の発現量を変化させることで、染色体整列の効率性が損なわれた状態である染色体整列の遅延を誘発し、染色体整列の遅延と染色体不安定性の関係を調べた。染色体整列に機能するモーター分子関連タンパク質の発現抑制を行ったところ、染色体整列は正常に行われたが染色体が整列するまでの時間が僅かに遅延するとともに、染色体分配異常と染色体不安定性が引き起こされた。これらの結果から、染色体整列の効率性の低下とともに染色体不安定性が誘引されることが示唆された。次に、染色体整列の効率性の低下が、どのように染色体分配過程に影響するのかを検証するために、染色体整列の効率性の低下の結果もたらされる、紡錘体極付近に長時間留まった染色体の状態を観察した。その結果、長時間紡錘体極付近に留まり遅れて整列する染色体では、キネトコア-微小管の誤った結合が有意に増加していた。また、遅れて整列する染色体を特異的に追跡し、その後の運命を解析したところ、遅れて整列する染色体では染色体分配異常を起こしやすいことがわかった。これらの結果から、染色体整列の効率性が低下し、紡錘体極付近に長時間染色体が留まると、誤ったキネトコア-微小管結合の形成が高頻度に生じ、また、その異常な結合が修正されずに染色体分配過程が進行する可能性が示唆された。キネトコア-微小管結合の異常は、分

裂期中期において修正される。そこで、染色体整列の効率性が低下した細胞において、染色体分配が正常な細胞と異常な細胞との分裂期中期の時間を比較した。その結果、染色体分配異常を示す細胞では、分裂期中期の時間が短縮していた。そこで、分裂期中期の時間を人為的に延長したところ、染色体分配異常の頻度が低下することがわかった。この結果より、染色体整列の効率性の低下に伴う、染色体分配異常はキネトコア-微小管結合修正に必要な分裂期中期の時間を十分に確保できないことで生じる可能性が示唆された。

本研究結果を統合すると、染色体不安定性の発生とともに見られる染色体整列の効率性の低下は、染色体分配異常の要因である誤ったキネトコア-微小管結合が形成される頻度を高めるとともに、異常な結合を修正するために必要な分裂期中期の時間の短縮をもたらすことが明らかになった。すなわち、本研究は、染色体整列の効率性が、正しいキネトコア-微小管結合の形成と、誤ったキネトコア-微小管結合の修正の両側面の制御に関わることで、染色体安定性に寄与していることを明らかにした。

審査結果の要旨

博士論文題目 染色体整列の効率性の低下により引き起こされる染色体不安定性の実態解明

所属専攻・分野名 医科学専攻・分子腫瘍学研究 分野

学籍番号 B4MD5059 氏名 國安 絹枝

多くのがん細胞では、染色体不安定性（染色体の不均衡分配が高頻度にかかる状態）が存在し、その結果染色体の数的異常（異数性）が認められる。染色体不安定性はがん細胞の遺伝的多様性を生み出すことにより、がんの発生・進展・薬剤耐性と密接に関連していると考えられるが、染色体不安定性の原因については不明な点が多い。本研究では、染色体が紡錘体中央に整列する際の効率性の低下が、染色体不安定性を引き起こす可能性について検討を行った。まず紡錘体上で作用するモーター分子及びその関連分子の発現を抑制したところ、染色体整列に要する時間が延長すると共に、染色体分配異常の増加が認められた。興味深いことに、モーター分子を過剰発現させた場合も同様の現象が認められ、これらの分子の発現量は適切に制御される必要があることが示唆された。また染色体数が通常の2倍である四倍体細胞でも、すべての染色体が整列するのに長い時間を要し、染色体分配異常の頻度が上昇した。これらの現象の背景として、遅れて整列する染色体では、両極からの微小管の密度が不均等な紡錘体極付近に長く留まるため、キネトコアと微小管の誤った結合が生じやすいのではないかと考えた。この仮説に一致して、遅れて整列する染色体では、キネトコアと微小管の誤った結合が高頻度で認められた。さらに、遅れて整列した染色体の挙動を追跡したところ、すでに整列している染色体と比べて高頻度で染色体分配異常が見られた。染色体分配異常を生じた細胞では、染色体整列に要する時間が延長する一方、整列から分配に至る時間は相対的に短縮する傾向があった。そこで整列から分配に至る時間を人為的に延長させると、染色体分配異常の頻度が低下した。これらのことから、遅れて整列する染色体では、キネトコアと微小管の誤った結合が生じやすいことに加えて、整列後に誤った結合を修正する時間も不足するために、不均等分配が起こりやすいことが示唆された。染色体整列の異常は、染色体分配および細胞生存に重大な影響を与えることが知られているが、本研究では染色体整列そのものではなく、その効率性という比較的軽微な異常が染色体不安定性を引き起こすことを明らかにした点に特徴があり、このような細胞生存を許容する軽微な異常ががん細胞の染色体不安定性の原因となっている可能性を示すものとして重要である。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。